
Métodos moleculares na caracterização da disbiose intestinal associado ao diabetes mellitus tipo 2

Molecular methods in the characterization of intestinal dysbiosis associated with type 2 diabetes mellitus

Tárcio Marcos Lins CavalcantiORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3300-1902>

Universidade de Pernambuco, Brasil

E-mail: cavalcanti_tm@yahoo.com.br**Ivaldo Pedrosa Calado Filho**ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0420-1734>

Universidade de Pernambuco, Brasil

E-mail: ivaldocalado@icloud.com**Inalda Maria de Oliveira Messias**ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8699-3717>

Universidade de Pernambuco, Brasil

E-mail: inalda.messias@upe.br**Júlio Brando Messias**ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6996-974X>

Universidade de Pernambuco, Brasil

E-mail: julio.messias@upe.br

RESUMO

Alteração na diversidade, quantidade ou densidade de microorganismo pode levar a uma desregulação do trato intestinal e conseqüentemente à disbiose. O objetivo foi identificar quais os métodos e marcadores moleculares utilizados para diagnóstico da disbiose. Trata-se de uma revisão integrativa da literatura nas bases de dados PubMed/MEDLINE, LILACS. Foram incluídos artigos dos últimos 15 anos que respondessem à questão norteadora: “Quais os principais métodos moleculares relacionados à disbiose intestinal associado ao diabetes mellitus tipo 2?”. Nove artigos foram incluídos, destacando a técnica de PCR e o fator microbiano, 16S rRNA. Conclui-se que o microbioma intestinal e a genética do hospedeiro podem influenciar os fenótipos metabólicos. As interações anormais entre o microbioma e o sistema imunológico em pessoas geneticamente suscetíveis podem causar doenças imunomediadas complexas. Em seres humanos, o uso de prebióticos e/ou probióticos pode auxiliar no controle de doenças metabólicas associadas à obesidade. Amostras amplificadas por PCR da região 16S rRNA emergem como método alvo terapêutico eficaz e possível marcador preditivo no diagnóstico da disbiose.

Palavras-chave: Nutrição; Microbiologia; Metabolismo; Enteropatias; Microbiota.

ABSTRACT

Changes in the diversity, quantity, or density of microorganisms can lead to dysregulation of the intestinal tract and consequently dysbiosis. We aimed to identify which methods and molecular markers are used to diagnose dysbiosis. This literature integrative review uses the PubMed/MEDLINE and LILACS databases. We included articles from the last 15 years that answered the guiding question: "What are the main molecular methods related to intestinal dysbiosis associated with type 2 diabetes mellitus?" totaling nine articles highlighting the PCR technique and the 16S rRNA microbial factor. We conclude that the intestinal microbiome and host genetics can influence metabolite phenotypes. Abnormal interactions between the microbiome and the immune system in genetically susceptible people can cause complex immune-mediated diseases. In humans, prebiotics and/or probiotics can help control metabolic diseases associated with obesity. Samples of the 16S rRNA region amplified by PCR emerge as an effective therapeutic target method and a possible predictive marker in the dysbiosis diagnosis.

Keywords: Nutrition; Microbiology; Metabolism; Enteropathies; Microbiota.

INTRODUÇÃO

O intestino humano em sua microbiota abriga bactérias, formadas por duas classes predominantes as, Firmicutes e Bacteroidetes, com 90% da população habitante no intestino, encontram-se nesse ambiente com menor prevalência os filos Proteobacteria, Actinobacteria e Verrucomicrobia. Dentre às duzentas espécies do filo Firmicutes destacam-se os *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* e *Ruminococcus*, em relação ao filo Bacteroidetes constituem Bacteroides e Prevotella (Turroni *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2019). A microbiota intestinal inclui bactérias benéficas e nocivas, localizadas no cólon onde são formadas suas colônias. O equilíbrio da microbiota intestinal é vital para a homeostase do hospedeiro, quando ocorre a desregulação desse ambiente com o aumento de bactérias patogênicas instala-se um quadro de disbiose (Cuppari, 2002).

A disbiose intestinal tem causas multifatoriais, dentre as causas está o uso abusivo de medicamentos, como antibióticos, laxantes, ingestão de alimentos ultraprocessados, exposição à xenobióticos, pH e fluxo intestinal e o estado imunológico do indivíduo. Os sintomas mais comuns da disbiose são: constipação intestinal, flatulência e distensão abdominal. O diagnóstico precoce é imprescindível, através da avaliação médica, nutricional, só com o diagnóstico é possível avaliar a melhor conduta (Barroso *et al.*, 2023).

Por ser definida como um desequilíbrio da flora bacteriana intestinal, a disbiose, reduz a capacidade de absorção dos nutrientes e causa carência de vitaminas. Este desequilíbrio é causado pelo conjunto de microrganismos que habita o trato GI capazes

de causar doenças. Os micróbios que residem no trato GI têm uma relação de mutualismo com o hospedeiro, sendo assim, é um distúrbio que desempenha um papel crucial na permeabilidade da mucosa GI que por sua vez regula a fermentação e absorção de polissacarídeos da dieta, o que pode explicar sua importância dos efeitos antioxidativos, antiinflamatórios e imunomoduladores envolvidos no mecanismo regulatório, resultando no desenvolvimento de doenças relacionadas DM2, e a exposição às bactérias da mucosa intestinal está entre os fatores reguladores deste mecanismo. Pesquisas envolvendo bactérias probióticas sugerem a capacidade de alguns grupos bacterianos de modificar o futuro imune de indivíduos (Tonucci *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2017; Crommen; Simon, 2018).

Estudos de Tilg e Moschen (2014); Jones *et al.* (2014); Sato *et al.* (2014) destacam que alterações da disbiose intestinal com a doença endócrina têm influência no desenvolvimento para diabetes tipo II (DM II). O advento da biologia molecular reduziu as limitações encontradas na utilização de métodos de cultivo, além de revelar novas perspectivas sobre a diversidade de microrganismos existentes na flora intestinal humana (Li *et al.*, 2012). Alterações da microbiota intestinal são reconhecidas como um fator de risco para (DM2), um transtorno crônico complexo 9 associado a fatores de risco genéticos e ambientais, como idade, dieta e estilo de vida (Mardinoglu *et al.*, 2016; Magnúsdóttir *et al.*, 2017).

Muitos estudos trazem conexões entre a disbiose e diversas doenças do corpo humano, como a diabetes mellitus, insuficiência renal e doenças do sistema nervoso central. A flora intestinal possui a função de regulação metabólica e imunológica (França *et al.*, 2021). Sendo, portanto, uma relação bidirecional, os aspectos psicoemocionais afetando a microbiota e vice-versa, o sistema nervoso central impacta o sistema gastrointestinal (GI) e toda sua estrutura.

Distúrbios neurológicos como a ansiedade, vêm sendo explicado através de sinais de estresse psíquicos, afetando a microbiota intestinal que desempenha um valioso papel no trato GI, no sistema imune e no conglomerado eixo intestino-cérebro, uma disfunção nesse eixo tem sido associada a distúrbios neurológicos (Arzani *et al.*, 2020; Zorzo, 2017). Estudos de Pantoja *et al.* (2019) afirmam que muitas doenças GI têm sido associadas a alterações no microbioma intestinal, estando relacionadas a distúrbios metabólicos, doenças hepáticas, neurológicas e do humor, artrite, condições imunológicas, obesidade, cardiopatias e o câncer do colorretal.

O cuidado com a alimentação, tornando ela mais saudável, tendo como base o consumo de frutas, verduras e grãos integrais, alimentos considerados como funcionais e fontes de compostos bioativos. A alimentação clínica funcional previne e trata doenças, uma vez que cada paciente tem sua individualidade bioquímica. Assim, entender o que desregula o equilíbrio da comunidade microbiana, ou seja, o que provoca a disbiose é um passo importante na correlação patológica de determinadas doenças (Safraid *et al.*, 2022).

O diabetes mellitus tipo II (DM2) é uma doença metabólica que atinge proporções epidêmicas em todo o planeta. O número estimado é maior do que as projeções, segundo as quais seriam 628,6 milhões de pessoas afetadas em todo o mundo no ano de 2045, isso na população de 20 a 79 anos e 79% dos casos estão em países em desenvolvimento (IDF, 2017).

A patogênese da DM2 envolve a interação de fatores genéticos e ambientais, como infecções virais, deficiências vitamínicas e disbiose intestinal. Alterações da microbiota intestinal são reconhecidas como um fator de risco para DM2, que aumenta o processo metabólico, incluindo o metabolismo da glicose e dos ácidos graxos (Wang *et al.*, 2017; Sohail *et al.*, 2017). Assim, pacientes com diabetes tipo II apresentam uma disbiose microbiana, com bactérias produtoras de butirato reduzidas e patógenos potenciais elevados em comparação com indivíduos metabolicamente saudáveis (Crommen; Simon, 2018). O número de genes de todas as bactérias localizadas no trato intestinal excede o genoma humano em pelo menos 500 vezes (Lepage *et al.*, 2013).

O trato GI hospeda aproximadamente 100 trilhões de bactérias que residem na superfície das mucosas e interagem constantemente com as células do sistema imunológico, causando à desregulação imunológica, translocação bacteriana, inflamação sistêmica e diabetes (Sohail *et al.*, 2017; Higuchi *et al.*, 2018). Existe a hipótese de que o padrão dos sítios de adesão bacteriana dentro do trato GI seria influenciado pela genética podendo induzir ativação de células T autorreativas e autoanticorpos desenvolvendo doenças clínicas como o DM2 cuja alteração resulta em disbiose (Crommen; Simon, 2018).

Avaliação molecular da disbiose associada ao DM II

Alguns relatórios de estudos estão relacionando alguns compostos derivados de microrganismos com alterações da homeostase da glicose, dentre eles, os lipopolissacarídeos (LPS), devido à alimentação rica em gordura, que aumenta a

microbiota plasmática contendo o LPS em uma concentração suficiente para aumentar o peso corporal, a glicemia de jejum e a inflamação. Essas alterações podem se translocar de um intestino permeável para corrente sanguínea e causar endotoxemia metabólica associada ao DM II (Delzenne; Cani, 2011; Mazloom et al., 2013).

O importante conceito do papel da disbiose intestinal na resistência à insulina foi descrito pela primeira vez por pesquisadores quando hipotetizaram que o lipossacarídeo (LPS) bacteriano derivado de bactérias gram-negativas residentes na microbiota intestinal atua como um fator desencadeante para o desenvolvimento de diabetes e obesidade; os LPS são um componente da parede celular de bactérias gram-negativas capazes de desencadear um estado inflamatório, presente em distúrbios metabólicos - a hipótese da inflamação metabólica, que é uma molécula pró-inflamatória bem conhecida, podendo se translocar para a corrente sanguínea de um intestino permeável o que influencia a distribuição sistêmica de endotoxinas e pode favorecer a endotoxemia metabólica adicional por redução da expressão de genes que codificam para proteínas das junções apertadas, que está associada à obesidade e ao DM II (Cani; Delzenne, 2009).

Após sua entrada na corrente sanguínea, o LPS se liga em receptores de superfície de membrana, chamados *toll-like receptors* (TLR), mais especificamente o receptor TLR4, o qual é responsável principalmente por participar da resposta inflamatória (Shi *et al.*, 2006). Esta família de receptores pertence a um grupo designados padrões moleculares associados a patógeno (PAMP's), em que podemos encontrar também o conjunto designado domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos (NOD) os quais são intracelulares (Andrews *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2014). Dez alterações composicionais em micróbios representativos do intestino foram identificadas em pacientes com DM2 submetidos ao tratamento com metformina, o antidiabético mais prescrito. Esses pacientes apresentam maior abundância de *Escherichia sp.*, *Akkermansia muciniphila* e *Subdoligranulum variabile* e menor de *Intestinibacter bartlettii* (Forslund *et al.*, 2015; Mardinoglu *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2017), bem como níveis aumentados de butirato e propionato de ácidos graxos de cadeia curta (Tilg; Moschen, 2014).

Abordagem terapêutica da microbiota intestinal no DM2

Estudo realizado por Camilo (2017) destaca a importante associação entre a disbiose intestinal e o DM II e aponta implicações importantes para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. A disbiose induzida pelo tratamento com metformina de pacientes com DM2 promove desequilíbrios nutricionais. Pesquisadores mostraram que a metformina, como tratamento de primeira linha para DM2, mas sem restrição calórica, teve um forte impacto na composição microbiana em indivíduos com DM2 recém diagnosticada.

Alterações na composição da microbiota, induzidas pela metformina, foram acompanhadas por uma melhora das concentrações de HbA1c (hemoglobina glicada A1C) e glicemia de jejum e até mesmo transferíveis para camundongos após a colonização com microbiota de doadores tratados com metformina. Portanto, os autores afirmaram que o efeito antidiabético da metformina é devido a uma composição alterada da microbiota (Wu *et al.*, 2017; Rosario *et al.*, 2018).

Assim, uma mobilidade intestinal alterada, a própria dieta, terapia medicamentosa ou supercrescimento bacteriano do intestino delgado, são causas das alterações na composição da microbiota na DM2, sendo este um efeito secundário. Os estudos para o conhecimento das bactérias benéficas ou patogênicas identificadas podem ser utilizados como uma forma de para moldar os microrganismos intestinais de uma forma positiva. Muitas pesquisas são necessárias para testar se o direcionamento do microbioma intestinal pode servir como base para o estabelecimento de novas estratégias preventivas ou terapêuticas de intervenção na diabetes tipo 2 (Wu *et al.*, 2017; Rosario *et al.*, 2018).

Abordagens de modulação de microbiota baseadas em probióticos, prebióticos e pós-bióticos são consideradas como potenciais terapias em pacientes com diabetes tipo 2. Assim, a identificação de bactérias intestinais desempenhando um papel benéfico ou promovendo efeitos adversos no metabolismo de glicose e ácidos graxos, permitirá a identificação de potenciais alvos microbianos para melhorar o metabolismo do hospedeiro (Manassi *et al.*, 2021).

Métodos moleculares para o tratamento da microbiota intestinal

Nos últimos anos, evidências acumuladas indicam que alterações na composição da comunidade microbiana intestinal, conhecidas como disbiose, podem estar intimamente relacionadas ao desenvolvimento de doenças crônicas. Com o avanço das

tecnologias de sequenciamento pesquisadores utilizaram de rRNA 16S para investigar a diversidade da microbiota intestinal em pacientes com aterosclerose (Koren *et al.*, 2011). Como resultado, eles identificaram cinco táxons bacterianos (Firmicutes, Proteobacteria, Lachnospiraceae, Erysipelotrichaceae e *Pseudomonas luteola*) no intestino que estão correlacionados com a aterosclerose, que podem ser marcadores potenciais de doenças. Posteriormente, centenas de doenças associadas à disbiose da microbiota intestinal foram validadas experimentalmente, como diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Sabino *et al.*, 2016).

Técnicas de sequenciamento de DNA automatizado de alto rendimento forneceram uma compreensão mais profunda da microbiota incrivelmente complexa e amplamente não cultivável que povoa o trato GI dos mamíferos em concentrações que superam as células dos mamíferos em 10 vezes (Ley *et al.*, 2006, 2008). Essas técnicas moleculares identificam espécies bacterianas componentes por sequenciamento de produtos amplificados por PCR de primers que têm como alvo regiões altamente conservadas do gene da subunidade 16S rDNA. A variação nessas sequências é então usada para representar filogeneticamente gêneros e espécies (Petersen *et al.*, 2008).

A suscetibilidade genética é um elemento-chave na resposta de um hospedeiro individual à microbiota residente, conforme ilustrado por resultados diferenciais quando microbiota complexa idêntica, cepas bacterianas únicas ou consórcios bacterianos definidos são transferidos para receptores normais versus livres de germes geneticamente modificados (GF) (Eun *et al.*, 2014). Resultados semelhantes foram observados quando espécimes fecais disbióticos ou de alta diversidade são usados para colonizar modelos de colite ou de tipo selvagem de GF, indicando o papel principal da eubiose ou disbiose na condução da homeostase ou inflamação.

Muitos dos genes que são manipulados para conferir risco à inflamação funcionam como reguladores imunológicos, mostrando a importância da regulação imunológica na determinação da resposta de um hospedeiro individual à microbiota residente (Britton *et al.*, 2019). Assim a interação do microbioma intestinal são respostas complexas com as células epiteliais intestinais, o metabolismo e a imunidade do hospedeiro com importantes influências tanto das vias imunológicas geneticamente programadas do hospedeiro quanto da composição e função microbiana. Os microrganismos comensais, simbióticos e patogênicos fornecem uma grande variedade de nutrientes e metabólitos para o metabolismo do hospedeiro, para a homeostase

energética de órgãos e tecidos e para a ativação e função das células imunes inatas e adaptativas (Paixão; Castro, 2016).

Em condições fisiológicas normais, nossa flora intestinal consiste numa grande variedade de bactérias, vírus, fungos e outros microrganismos unicelulares que habitam no nosso organismo, portanto é um ecossistema homeostático com várias funções vitais e inter-relações importantes para a saúde do hospedeiro. Quando esse bioma entrar em desequilíbrio, ocorre a disbiose e aumento do risco de doença. São várias doenças GIs que podem ser identificadas como: doença inflamatória intestinal (DII), síndrome do intestino irritável (SII), DAA, entre outras. A disbiose também está relacionada a outras doenças também fora do sistema GI, podendo estar relacionada com a obesidade, diabetes, doenças atópicas, entre outras patologias (Forbes *et al.*, 2016).

As bactérias comensais do intestino participam ativamente no metabolismo de vários compostos e, portanto, podem afetar a biodisponibilidade, concentrações e toxicidade dos fármacos (Marchesi *et al.*, 2016; Zmora *et al.*, 2016).

Assim, a manipulação da microbiota intestinal adaptada ao doente poderá aumentar o desenvolvimento de tratamentos precisos que têm como alvo o microbioma. São necessárias maiores intervenções, foram no âmbito do uso do Transplante da microbiota fecal (TMF) na colite refratária por *C. difficile*, ainda estão em desenvolvimento estudos para doenças, como o DII. Segundo Forbes; Van Domselaar; Bernstein (2016) o uso personalizado de prebióticos, probióticos e dietas, porém ainda existem desafios como a uniformidade e robustez dos ensaios e incorporando o diagnóstico e a terapêutica baseada na microbiota na prática médica comum.

São muitas as estratégias terapêuticas baseadas em micróbios para a alteração da microbioma geral ou seu ambiente, introduzir micróbios terapêuticos ou alterar a produção de efetores de micróbios. Os primeiros ensaios realizaram a aplicação de micróbios terapêuticos e o desenvolvimento de drogas que inclua microorganismos vivos. Esses estudos para o desenvolvimento de pequenas moléculas começaram com pesquisa básica e pequenas descobertas de moléculas bioativas, seguido por estudos pré-clínicos e, finalmente, testes de segurança e eficácia em pacientes. Essas terapias baseadas em micróbios é um desafio para os conceitos de mecanismos, formulação e monitoramento de drogas, exigindo muitas novas abordagens para o desenvolvimento e a regulação. Portanto, nosso objetivo é conhecer os métodos moleculares na

caracterização da disbiose intestinal associado ao diabetes mellitus tipo 2 e quais as atuais terapias.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo qualitativo sob a forma de revisão integrativa de literatura, cujo método reúne, avalia e sintetiza os resultados de pesquisas sobre a temática específica. Para construção desta revisão foram percorridas as seguintes etapas: estabelecimento do tema; definição dos parâmetros de elegibilidade; definição dos critérios de inclusão e exclusão; verificação das publicações nas bases de dados; exame das informações encontradas; análise dos estudos encontrados e exposição dos resultados (Souza; Silva; Carvalho, 2010). A questão norteadora para o desenvolvimento da pesquisa foi: “Quais os principais métodos moleculares relacionados à disbiose intestinal associado ao diabetes mellitus tipo 2 e quais as terapias atuais?”.

O levantamento bibliográfico foi realizado por meio de consulta nas bases de dados ‘Search MEDLINE/PubMed via PICO with Spelling Checker’, The Cochrane Library, Web of Science, Scopus e Scielo, utilizando os seguintes descritores: ‘dysbiosis’ e o operador booleano AND ‘type 2 diabetes’ AND ‘intestine/microbiology’ OR ‘Gut microbiota and probiotics intervention’. Foram incluindo no estudo que preencheram os seguintes critérios, estudos sobre a disbiose intestinal relacionada ao diabetes mellitus com sintomas de infecção bacteriana dos últimos 15 anos e foram excluídos estudos incompletos, sem dados específicos nem relevantes; artigos de revisão, os editoriais e os estudos duplicados.

A Classificação dos artigos incluídos na pesquisa foi feita conforme a metodologia proposta por Souza; Silva; Carvalho (2010), onde explica que os estudos se apresentam em seis níveis distintos:

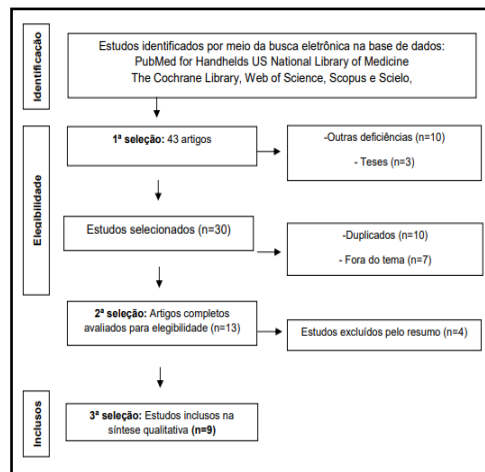
- Nível I: evidências resultantes da meta-análise de múltiplos estudos clínicos controlados e randomizados;
- Nível II: evidências obtidas em estudos individuais com delineamento experimental;
- Nível III: evidências de estudos quase-experimentais;
- Nível IV: evidências de estudos descritivos (não-experimentais) ou com abordagem qualitativa;
- Nível V: evidências provenientes de relatos de caso ou de experiência;

- Nível VI: evidências baseadas em opiniões de especialistas.
- A combinação geral dos dados provenientes dos estudos incorporados foi conduzida por meio de uma síntese descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 43 artigos, após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão e leitura de título e resumo, sendo excluídos 30 artigos, restando 13 artigos elegíveis, após uma nova avaliação excluiu-se quatro (4), os nove artigos restantes foram lidos na íntegra e selecionados para esta revisão. Para descrição das buscas e seleção dos artigos, foi construído um fluxograma (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma de identificação e seleção dos artigos selecionados nas bases de dados sobre disbiose intestinal



Fonte: Autores.

Todos os artigos foram publicados na língua inglesa. Três artigos (Tonucci et al., 2017, Pedersen et al., 2016 e Candela et al., 2016) apresentaram nível de evidência I, três artigos (Wang et al., 2017; Chen *et al.*, 2017 e Sato *et al.*, 2014) apresentaram nível de evidência II e três artigos (Qin *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2010; Larsen *et al.*, 2010) apresentaram nível de evidência III.

Quadro 1 – Caracterização dos artigos segundo autor/ano de publicação, tipo de estudo, objetivo, marcados de disbiose associado ao DM2 e resultado/conclusão

Autor (es) / Ano e Nível de evidência	Objetivo	Marcador de disbiose associado ao DM2	Resultado / Conclusões
1. Wang et al. (2017) (II)	Investigação e comparação da composição e a riqueza da microbiota intestinal de indivíduos saudáveis e normais tolerantes à glicose (NGT) e pacientes com DM2 de dois grupos étnicos minoritários em Xinjiang, noroeste da China, o Uigures e cazaques.	Estudo experimental observacional. Foram testados o sequenciamento da região V6 do gene 16S rRNA e qPCR. A região V6 conservada do gene 16S rRNA foi amplificada por PCR a partir do DNA isolado. O DNA amplificado foi sequenciado e analisado.	Os dados diferenciados da microbiota podem ser utilizados para potenciais biomarcadores para o diagnóstico e prevenção do DM2.
2. Tonucci et al. (2017) (I)	Investigar os efeitos dos probióticos no controle glicêmico, perfil lipídico, inflamação, estresse oxidativo e ácidos graxos de cadeia curta em T2D.	Estudo duplo-cego, randomizado e controlado por placebo. Foram testados marcadores antiinflamatórios, como IL-10 e adiponectina.	A suplementação com probióticos é eficaz na melhora do controle glicêmico, regulando os níveis de produção de ácidos graxos de cadeia curta e diminuindo o estresse oxidativo em indivíduos com DM2.
3. Chen et al. (2017) (II)	Realizar um estudo comparativo avaliando os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) de metagenomas intestinais em pacientes com DM2 em relação aos pacientes e controles saudáveis.	O método utilizado foi a filogenética metagenômica (MetaPhlAn), que auxilia na caracterização dos perfis taxonômicos de amostras shotgun de metagenoma completo.	A análise metagenômica revelou que a microbiota intestinal de pacientes com DM2 e indivíduos saudáveis tinha diferentes distribuições de SNP
4. Pedersen et al. (2016) (I)	Investigar os efeitos da suplementação de prebióticos em bactérias intestinais, IP, endotoxemia e tolerância à glicose simultaneamente em pacientes com DM2.	A análise da comunidade microbiana intestinal foi realizada por sequenciamento de última geração de alto rendimento de amplicons de rRNA 16S e PCR quantitativo.	A suplementação com um prebiótico não teve efeito benéfico significativo sobre os resultados de tolerância à glicose em indivíduos com DM2 bem controlada.
5. Candela et al. (2016) (I)	Apresentar duas abordagens dietéticas restritas de energia: macrobiótica Ma-Pi2 e a recomendada por sociedades profissionais italianas para corrigir as disbioses intestinais da microbiota em pacientes com DM2.	Estudo ensaio clínico aberto controlado. A composição da microbiota intestinal foi testada por meio do sequenciamento e processamento de DNA ribossômico 16S Rna e metagenômica imputada.	A comunidade microbiana disbiótica relacionada à DM2 observada pode exercer um papel multifatorial no início da doença, contribuindo para a desregulação metabólica e imunológica.
6. Sato et al. (2014) (II)	Investigar a relação entre vários parâmetros clínicos, ingestão alimentar e microbiota intestinal para determinar a significância clínica da microbiota intestinal em pacientes japoneses com DM2.	Utilizou-se um método de PCR quantitativo-transcrição reversa sensível (RT-qPCR), determinada para a composição da microbiota intestinal fecal em pacientes com diabetes tipo 2 e controle.	Os resultados demonstraram disbiose intestinal e possível translocação bacteriana do sangue em pacientes com DM2.

7. Qin et al. (2012) (III)	Realizar um estudo de associação de metagenoma com base no sequenciamento de shotgun de DNA microbiano extraídos de amostras de pacientes com DM2.	Foi realizado um protocolo de associação do metagenoma (MGWAS) em estágios com base no sequenciamento shotgun no DNA microbiano intestinal.	Marcadores metagenômicos do intestino são capazes de diferenciar entre casos de DM2 e controles.
8. Wu et al. (2010) (III)	Caracterizar a microbiota fecal em pacientes com diabetes e indivíduos saudáveis.	Foram avaliados DNAs bacterianos de pacientes com DM2 caracterizadas por eletroforese em gel de gradiente nesturante por PCR (Eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) direcionados à região V3 do gene 16S rRNA.	A microbiota intestinal de pacientes com diabetes apresenta algumas alterações associadas à ocorrência e ao desenvolvimento do diabetes.
9. Larsen et al. (2010) (III)	Avaliar as diferenças entre a composição da microbiota intestinal em humanos com DM2 e não diabéticas como controle.	A composição bacteriana fecal foi investigada por PCR quantitativo em tempo real (qPCR) e por pirosequenciamento de amplicon codificado por tag da região V4 do gene 16S rRNA.	Os resultados indicam que o diabetes tipo 2 em humanos está associado a alterações composicionais na microbiota intestinal

Fonte: Próprios autores.

Uma microbiota alterada na doença associada ao diabetes pode permitir o início de processos inflamatórios. Tal microbiota alterada pode agir localmente e, através de uma barreira mucosa prejudicada, agir sistemicamente. Em apoio a esse conceito, foi demonstrado que pacientes com síndrome metabólica associada ao diabetes mellitus tipo 2 exibem uma notável endotoxemia (Lassenius *et al.*, 2011; Ppussinen *et al.*, 2011).

Entender as condições patológicas e os mecanismos moleculares por trás da aquisição da patogenicidade por micróbios comensais do intestino representa um desafio para as direções de pesquisa com foco na disbiose da microbiota intestinal. A ruptura da barreira intestinal representa uma circunstância chave que caracteriza o aparecimento de várias condições inflamatórias, incluindo DM2. O nível de tolerância à glicose deve ser considerado ao vincular a microbiota a doenças metabólicas, como a obesidade, e ao desenvolver estratégias para controlar doenças metabólicas por meio da modificação da microbiota intestinal.

Wang *et al.* (2017), demonstraram que o microbiota intestinal pode ter uma influência importante no desenvolvimento entre os pacientes com DM2 e saudáveis tolerantes à glicose. Os resultados lançaram uma nova luz sobre uma possível

associação entre a microbiota intestinal e a prevalência de diabetes. Esses dados podem ser utilizados para potenciais biomarcadores na associação das duas doenças.

Tonucci *et al.* (2017), avaliaram, em um primeiro ensaio clínico controlado randomizado o efeito da aplicação clínica de probióticos no DM2, este ensaio sugere que o consumo de probióticos melhora o controle glicêmico em indivíduos com DM2, entretanto, a ingestão de leite de cabra fermentado parece estar envolvida com alterações nas citocinas inflamatórias (TNF- α e resistina) e nas concentrações de ácido acético. Os probióticos, como alimentos funcionais, oferecem grande potencial para melhorar a saúde e / ou ajudar a prevenir certas doenças quando tomados como parte de uma dieta balanceada e estilo de vida saudável.

Pesquisadores sugerem que a endotoxina derivada do intestino pode estar crucialmente envolvida na inflamação crônica observada no DM2. Cani *et al.* (2009), em seu estudo mostrando que uma dieta rica contribuiu para o desenvolvimento de obesidade e distúrbios metabólicos e pode estar associado ao sistema imunológico inato. Assim, uma alimentação com dieta rica em gordura desencadeia o desenvolvimento de obesidade, inflamação, resistência à insulina, diabetes tipo 2 e aterosclerose por mecanismos dependentes da ativação de LPS e/ou ácidos gordos do complexo receptor CD14/TLR4 LPS da microbiota intestinal. O aumento da permeabilidade intestinal é resultado da redução da expressão de proteínas da junção estreita, eventualmente favorecendo a translocação do lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), que pode resultar em endotoxemia metabólica e resistência à insulina.

Chen *et al.* (2017), relatam que os micróbios intestinais desempenham um papel crítico na saúde e nas doenças humanas, e os pesquisadores começam a caracterizar seus genomas, o chamado metagenoma intestinal. Esses resultados sugerem que diferentes cepas de *Bacteroides coprocola* podem ter papéis diferentes no intestino humano e um conjunto específico de cepas de *B. coprocola* estão correlacionadas com DM2. Embora a variação genômica de microbiomas seja bem documentada por esses estudos, a associação de achados metagenômicos em nível de cepa com doenças humanas tem sido limitada.

Até o momento, os estudos de metagenômica focaram na composição em nível de gênero ou espécie e conjuntos de genes microbianos. O sequenciamento de última geração e as tecnologias de bioinformática fornecem acesso às informações genéticas de todo o microbiota e, assim, permitem a investigação sistemática de sua composição e

genética funcional. Pedersen et al. (2016), identificaram em modelos animais, que os prebióticos induzem mudanças favoráveis na microbiota intestinal, na permeabilidade intestinal e na endotoxemia, que estão ligadas à melhora simultânea na tolerância à glicose e bactérias intestinal no DM2 e concluíram que a suplementação de fibra prebiótico não teve efeitos significativos sobre os resultados clínicos ou aumento bacteriano no controle da glicose. Isso agora está de acordo com outro trabalho que mostra a falta de eficácia das fibras alimentares no tratamento do DM2 em contraste com seu papel benéfico na prevenção do DM2 (Bodinhm *et al.*, 2014).

Candela *et al.* (2016), estudaram a modulação das disbioses da microbiota intestinal em pacientes diabéticos tipo 2 pela dieta macrobiótica MaPi 2 e concluíram que a dieta Ma-Pi 2 promoveu potencial redução e controle metabólico e um estado nutricional equilibrado de pacientes com DM2, favorecendo assim, o aumento das funções da microbiota intestinal envolvidas na biossíntese de ácidos graxos insaturados e aminoácidos essenciais, neutralizando o florescimento contínuo de patógenos pró-inflamatório em DM2. De fato, os componentes da microbiota intestinal podem modular diferentes fatores que contribuem para o fenótipo metabólico do hospedeiro. A possibilidade de melhorar o controle metabólico em DM2 *pelo* desenvolvimento de dietas seletivas que são capazes de corrigir as disbioses da microbiota intestinal tem sido considerada por pesquisadores.

Sato *et al.* (2014), demonstraram disbiose intestinal e possível translocação bacteriana no *sangue* em pacientes com DM2. Os achados mostraram que o nível de ácidos orgânicos totais fecais se correlacionou intimamente com a ingestão de carboidratos e negativamente com a ingestão de gordura total e de ácidos graxos saturados. Além disso, os níveis plasmáticos de Proteína plasmática de ligação de lipopolissacarídeos (LBP) foram significativamente mais elevados em pacientes DM2. Considerando esses papéis dos ácidos orgânicos totais fecais, mais estudos são necessários para determinar a importância da translocação de bactérias Gram-positivas na inflamação sistêmica identificada em pacientes com esse tipo de diabetes.

Qin *et al.* (2012), acreditam que o risco de desenvolver DM2 também pode envolver fatores de outro genoma, ou seja, microbiota intestinal, também denominada metagenoma intestinal. Essa teoria implica que os marcadores metagenômicos do intestino são capazes de diferenciar os casos do DM2, através de um quadro geral em que bactérias produtoras de butirato por terem um papel protetor contra vários tipos de

doenças. Os resultados indicaram que os pacientes com DM2 apresentavam apenas disbiose bacteriana intestinal de grau moderado; no entanto, as análises de anotação funcional indicaram um declínio nas bactérias produtoras de butirato, que podem ser metabolicamente benéficas, e um aumento em vários patógenos oportunistas. Wu *et al.* (2010), investigaram a caracterização da microbiota intestinal em pacientes com DM2, por meio de análises moleculares indicando que altos níveis de variação interindividual de comunidades de bactérias intestinais são observados sem associação entre diversidade microbiana e diabetes. Estudo realizado com 11 crianças em seu primeiro ano de vida, para a análise do estabelecimento e diversidade da microbiota intestinal, foi observado uma associação clara entre a composição da microbiota fecal e o diabetes emergiu durante a análise realizada por Eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE), (Carvalho *et al.*, 2012).

A influência fisiológica da composição e diversidade da microbiota intestinal humana no hospedeiro humano requer mais investigação para aumentar a compreensão de seu papel funcional em estados normais e desordenados. Além disso, nosso achado de uma disbiose geral em pacientes com DM2 levanta a possibilidade de que haja uma 'disbiose funcional', em vez de haver uma espécie microbiana específica que tem uma associação direta com a fisiopatologia de DM2 (Sedighi *et al.*, 2017). Uma estratégia é modificar geneticamente os micróbios ou usá-los em combinação com outros micróbios, como um organismo geneticamente modificado, ou como uma comunidade definida que não é encontrada na natureza (não é um produto natural).

Os metabólitos gerados pela microbiota e seus componentes celulares e moleculares estão cada vez mais sendo reconhecidos como uma parte essencial da fisiologia humana, com efeitos profundos na função e disfunção imunológica. Os metabólitos microbianos são gerados por meio de interações microorganismo-microorganismo e hospedeiro-microorganismo, e há uma crescente valorização do papel desse co-metabolismo na saúde e doença humana (Rooks; Garrett, 2016; Cohen *et al.*, 2019). As terapias baseadas em micróbios estão se tornando mais diversificadas e eficazes à medida que aumenta nossa compreensão das interações entre o microbioma e as células humanas. Começamos a entender melhor os efeitos dos fatores genéticos e ambientais sobre o microbioma e seus produtos ou efetores.

As estratégias de formulação podem ser refinadas para enfrentar o desafio primário da diversidade na flora intestinal entre os indivíduos e para o tratamento de

doenças específicas. Pesquisadores investigando a associação do genoma do microbioma revelam que variantes em muitos genes humanos envolvidos na imunidade e na arquitetura intestinal estão associadas a uma composição alterada do microbioma intestinal. Embora muitos fatores possam afetar os organismos microbianos que residem no intestino, várias descobertas recentes apoiam a hipótese de que certas variantes genéticas do hospedeiro predisõem um indivíduo à disbiose do microbioma (Goodrich *et al.*, 2014).

Um método padrão, mais atual para determinação da composição do microbioma intestinal é realizado pelo isolamento do DNA total das amostras, amplificação por PCR de regiões dentro dos genes 16S / 18S rRNA universalmente conservados, seguido pelo sequenciamento de alto rendimento desses *amplicons*. Triagem genética de metabólitos do microbioma intestinal pode facilitar a identificação de metabólitos bioativos que são importantes para a fisiologia do hospedeiro ou estão implicados em doenças imunomediadas. Coletivamente, o desenvolvimento dessas terapias baseadas em microbioma requer uma compreensão aprimorada das interações complexas e intrincadas entre o microbioma e a imunidade (Sartor, 2008).

As descobertas atuais sugerem que a microbiota intestinal em distúrbios pode ser alterada por medicamentos, dietas e outras medidas de intervenção, o que levaria a efeitos benéficos sobre os distúrbios. Os recursos atuais se concentram principalmente na restauração e gerenciamento de genomas microbianos e, portanto, na realização de análises comparativas, para fornecer genomas padrão-ouro, o banco de dados de genomas microbianos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a genética do hospedeiro e o microbioma intestinal podem influenciar os fenótipos metabólitos. As interações anormais entre o microbioma e o sistema imunológico do hospedeiro em indivíduos geneticamente suscetíveis podem contribuir para o desenvolvimento de doenças imunomediadas complexas. Os estudos utilizando modelos experimentais em seres humanos mostraram que uma alteração da microbiota intestinal utilizando os prebióticos e/ou probióticos pode contribuir no controle e desenvolvimento de doenças metabólicas associadas à obesidade. Amostras amplificadas por PCR da região 16S rRNA emergem como método alvo terapêutico eficaz e possível marcador preditivo como resultado de longo prazo em conjunto com

disbiose da microbiota intestinal. Contudo, ainda são necessários mais estudos para o descobrimento de mais estratégias específicas para modificar a microbiota intestinal para impactar na prevenção e desenvolvimento de doenças metabólicas.

REFERÊNCIAS

ANDREWS, M.; SOTO, N.; ARREDONDO, M.. Efeito da metformina na expressão do fator de necrose tumoral- α , receptores Toll like 2/4 e proteína C reativa em pacientes obesos com diabetes tipo 2. **Revista Médica de Chile**, v. 11, p. 1377-1382, 2012.

ARZANI, M. et al. Gut-brain axis and migraine headache: a comprehensive review. **The journal of headache and pain**, v. 21, p. 1-12, 2020.

BODINHAM, C. L. et al. Efficacy of increased resistant starch consumption in human type 2 diabetes. **Endocrine connections**, v. 3, n. 2, p. 75-84, 2014.

BRITTON, G. J. et al. Microbiotas from humans with inflammatory bowel disease alter the balance of gut Th17 and ROR γ mat(+) regulatory T cells and exacerbate colitis in mice. **Immunity**, v. 50, n.1, p.212-214, 2019.

CAMILO, H. M. **Do exógeno para o endógeno: o exercício físico na modificação da microbiota intestinal como mais uma abordagem terapêutica**. 2017. 43 f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Educação Física) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências (Campus de Rio Claro), 2017.

CANDELA, M. et al. Modulation of gut microbiota dysbioses in type 2 diabetic patients by macrobiotic Ma-Pi 2 diet. **Br J Nutr**, v.116, n.1, p.80-93, 2016.

CANI, P. D. et al. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. **The American journal of clinical nutrition**, v. 90, n. 5, p. 1236-1243, 2009.

CANI, P. D.; DELZENNE, N. M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. **Current Pharmaceutical Design**, v.15, n. 13, p. 1546-1558, 2009.

CARVALHO, I. I. R.. **Análise da diversidade da microbiota fecal de crianças de zero a doze meses de idade usando o método de eletroforese em gel com gradiente desnaturante**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

CHEN, Y. et al. Gut metagenomes of type 2 diabetic patients have characteristic single-nucleotide polymorphism distribution in *Bacteroides coprocola*. **Microbiome**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2017.

COHEN, L. J. et al. Genetic factors and the intestinal microbiome guide development of microbe-based therapies for inflammatory bowel diseases. **Gastroenterology**, v. 156, n. 8, p. 2174-2189, 2019.

CROMMEN, S.; SIMON, M.-C.. Microbial regulation of glucose metabolism and insulin resistance. **Genes**, v. 9, n. 1, p.1-10, 2018.

CUPPARI, L. **Nutrição clínica no adulto: guias de medicina ambulatorial e hospitalar**. _____. Nutrição enteral. São Paulo: Manole, p. 369-90, 2002.

DELZENNE, N. M.; CANI, P. D. Gut microbiota and the pathogenesis of insulin resistance. **Current diabetes reports**, v. 11, p. 154-159, 2011.

EUN, C. S. et al. Induction of bacterial antigen-specific colitis by a simplified human microbiota consortium in gnotobiotic interleukin-10^{-/-} mice. **Infect Immun**, v. 82, n. 6, p. 2239-46, 2014.

FORBES, J. D. et al. The gut microbiota in immune-mediated inflammatory diseases. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1081, 2016.

FORSLUND, K. et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. **Nature**, v. 528, n. 7581, p. 262-266, 2015.

FRANÇA, G. M. et al. O efeito imunomodulador da microbiota intestinal, as consequências de seu desequilíbrio e a profilaxia probiótica. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 9, p. 151-175, 2021.

GOMES, A. C. et al. Gut microbiota, probiotics and diabetes. **Nutrition journal**, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2014.

GOODRICH, J. K. et al. Human genetics shape the gut microbiome. **Cell**, v. 159, n. 4, p. 789-799, 2014.

HIGUCHI, B. S. et al. Intestinal dysbiosis in autoimmune diabetes is correlated with poor glycemic control and increased interleukin-6: a pilot study. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 1689, 2018.

IDF - International Diabetes Federation. Atlas. 8. ed. Bruxelas: International Diabetes Federation; 2017.

JONES, M. L. et al. The human microbiome and bile acid metabolism: dysbiosis, dysmetabolism, disease and intervention. **Expert opinion on biological therapy**, v. 14, n. 4, p. 467-482, 2014.

KOREN, O. et al. Microbiota oral, intestinal e de placas humanas em pacientes com aterosclerose. **Anais da Academia Nacional de Ciências**, v. 108, n. supl. 1, p. 4592-4598, 2011.

LARSEN, N. et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. **PLoS One**, v. 5, n. 2, p. e9085, fev. 2010.

- LASSENIUS, M. I. et al. Bacterial endotoxin activity in human serum is associated with dyslipidemia, insulin resistance, obesity, and chronic inflammation. **Diabetes care**, v. 34, n. 8, p. 1809-1815, 2011.
- LEPAGE, P. et al. A metagenomic insight into our gut's microbiome. **Gut**, v. 62, n. 1, p. 146-158, 2013.
- LEY, R. E. et al. Evolution of mammals and their gut microbes. **Science**, v.320, p.1647-1651, 2008.
- LEY, R. E. et al. Human gut microbes associated with obesity. **Nature**, v. 444, n. 7122, p. 1022-1023, 2006.
- LI, K. et al. Analyses of the microbial diversity across the human microbiome. **Plos One**, v. 7, n.6, p.132118, 2012.
- LI, X. et al. Effects of Lactobacillus casei CCFM419 on insulin resistance and gut microbiota in type 2 diabetic mice. **Beneficial microbes**, v. 8, n. 3, p. 421-432, 2017.
- LIU, F. et al. Dysbiosis of the gut microbiome is associated with tumor biomarkers in lung cancer. **International Journal of Biological Sciences**, v. 15, n. 11, p. 2381, 2019.
- MAGNÚSDÓTTIR, S. et al. Generation of genome-scale metabolic reconstructions for 773 members of the human gut microbiota. **Nature biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 81-89, 2017.
- MANASSI, C. F. et al. Tendências em produtos cárneos funcionais e suas implicações na saúde humana. 2021. 79 p. Trabalho de conclusão do Curso (bacharelado - Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina - Centro de Ciências Agrárias (Florianópolis), 2021.
- MARCHESI, J. R. et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. **Gut**, v. 65, n. 2, p. 330-339, 2016.
- MARDINOGLU, A.; BOREN, J.; SMITH, U. Confounding effects of metformin on the human gut microbiome in type 2 diabetes. **Cell metabolism**, v. 23, n. 1, p. 10-12, 2016.
- MAZLOOM, Z.; YOUSEFINEJAD, A.; DABBAGHMANESH, M. H.. Effect of probiotics on lipid profile, glycemic control, insulin action, oxidative stress, and inflammatory markers in patients with type 2 diabetes: a clinical trial. **Iranian journal of medical sciences**, v. 38, n. 1, p. 38, 2013.
- PAIXÃO, L. A.; CASTRO, F. F. dos S. Colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 85-96, 2016.
- PANTOJA, C. L. et al. Diagnóstico e tratamento da disbiose: Revisão Sistemática. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 32, p. e1368-e1368, 2019.

- PEDERSEN, C. et al. Host–microbiome interactions in human type 2 diabetes following prebiotic fibre (galacto-oligosaccharide) intake. **British Journal of Nutrition**, v. 116, n. 11, p. 1869-1877, 2016.
- PUSSINEN, P. J. et al. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes. **Diabetes Care**, v. 34, n. 2, p. 392-397, 2011.
- QIN, J. et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. **Nature**, v. 490, n. 7418, p. 55-60, 2012.
- ROOKS, M. G.; GARRETT, W. S. Gut microbiota, metabolites and host immunity. **Nature reviews immunology**, v. 16, n. 6, p. 341-352, 2016.
- ROSARIO, D. et al. Understanding the representative gut microbiota dysbiosis in metformin-treated type 2 diabetes patients using genome-scale metabolic modeling. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 775, 2018.
- SABINO, J. et al. Primary sclerosing cholangitis is characterised by intestinal dysbiosis independent from IBD. **Gut**, v. 65, n. 10, p. 1681-1689, 2016.
- SAFRAID, G. F. et al. Profile of functional food consumer: identity and habits. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 25, p. e2021072, 2022.
- SARTOR, R. B. Therapeutic correction of bacterial dysbiosis discovered by molecular techniques. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 43, p. 16413-16414, 2008.
- SATO, J. et al. Gut dysbiosis and detection of “live gut bacteria” in blood of Japanese patients with type 2 diabetes. **Diabetes care**, v. 37, n. 8, p. 2343-2350, 2014.
- SEDIGHI, M. et al. Comparison of gut microbiota in adult patients with type 2 diabetes and healthy individuals. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, p. 362-369, 2017.
- SHI, H. et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid–induced insulin resistance. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 11, p. 3015-3025, 2006.
- SOHAIL, M. U. et al. Role of the gastrointestinal tract microbiome in the pathophysiology of diabetes mellitus. **Journal of diabetes research**, v. 2017, 2017.
- BARROSO, A. C. de S. et al. Comparação entre necessidade, prescrição e infusão de dietas enterais em um hospital público de Belém-PA. **Braspen Journal**, v. 34, n. 1, p. 46-51, 2023.
- SOUZA, M. T. de; SILVA, M. D. da; CARVALHO, R. de. Integrative review: what is it? How to do it? **Einstein** (São Paulo), v. 8, p. 102–106, mar. 2010.
- TILG, H.; MOSCHEN, A. R. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. **Gut**, v. 63, n. 9, p. 1513-1521, 2014.

TURRONI, F. et al. The infant gut microbiome as a microbial organ influencing host well-being. **Italian journal of pediatrics**, v. 46, n. 1, p. 1-13, 2020.

WANG, Y. et al. Gut microbiome analysis of type 2 diabetic patients from the Chinese minority ethnic groups the Uygurs and Kazaks. **Plos one**, v. 12, n. 3, p. e0172774, 2017.

WU, G. D.; COMPHER, C.; CHEN, E. Z. et al. Comparative metabolomics in vegans and omnivores reveal constraints on diet-dependent gut microbiota metabolite production. **Gut**, v. 65, n. 1, p. 63-72, 2016.

WU, X. et al. Molecular characterization of the faecal microbiota in patients with type 2 diabetes. **CurrMicrobiol**, v. 61, n. 1, p.69-78, 2010.

ZMORA, N. et al. Taking it personally: personalized utilization of the human microbiome in health and disease. **Cell host & microbe**, v. 19, n. 1, p. 12-20, 2016.

ZORZO, R. A. Impacto do microbioma intestinal no eixo cérebro-intestino. **International Journal of Nutrology**, v. 10, n. S 01, p. S298-S305, 2017.